

基于远红外热成像的叶温变化与玉米苗期耐旱性的研究

刘 亚^{1,2}, 丁俊强¹, 苏巴钱德¹, 廖登群¹, 赵久然², 李建生¹

(¹ 中国农业大学国家玉米改良中心/农业部基因组学与遗传改良重点实验室, 北京 100193; ² 北京市农林科学院玉米研究中心, 北京 100097)

摘要: 【目的】植物可以通过降低叶片气孔蒸腾来达到控制失水和增强抗旱的目的。蒸腾强度的变化会引起植物叶片温度的变化, 利用远红外热成像仪研究遭受干旱胁迫时玉米自交系苗期叶温的变化与生物量耐旱系数间的关系, 为筛选鉴定玉米耐旱自交系提供依据。【方法】以 83 个优良玉米自交系为材料, 利用远红外热成像仪检测干旱胁迫条件下苗期叶片温度的变化, 叶片的气孔导度、蒸腾强度采用气孔计 Li-1600 测定, 同时测定植株的生物量。【结果】遭受干旱胁迫时, 玉米苗期叶片的相对生物量变异幅度为 0.271~0.997 (生物鲜重)、0.338~0.969 (生物干重), 叶温变异幅度为 -0.1~+0.5℃, 均存在显著变异。耐旱玉米自交系的叶片温度显著上升, 而敏感玉米自交系的叶片温度变化不明显。干旱胁迫与正常灌水条件下叶温的差值即叶温差与相对生物鲜重 (0.283*, 0.288**, n=83) 及相对生物干重 (0.239*, 0.273**, n=83) 间存在极显著的相关性。此外, 叶温差与叶片气孔导度、蒸腾强度间也存在着显著的相关性。【结论】遭受干旱胁迫时, 玉米苗期叶片温度变化可以显著反映玉米苗期的耐旱性, 叶温差可以作为玉米苗期耐旱性初步筛选的一个指标, 将远红外热成像技术运用于玉米耐旱育种存在可行性。

关键词: 玉米; 叶温; 干旱; 远红外热成像

Identification of Maize Drought-Tolerance at Seedling Stage Based on Leaf Temperature Using Infrared Thermography

LIU Ya^{1,2}, DING Jun-qiang¹, Subhash Chander¹, LIAO Deng-qun¹, ZHAO Jiu-ran², LI Jian-sheng¹

(¹ Key Lab of Crop Genomics and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture/National Maize Improvement Center of China, China Agricultural University, Beijing 100193; ² Maize Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097)

Abstract: 【Objective】 One efficient approach to enhance plant drought tolerance is to decrease water loss during leaf transpiration through stoma regulation, which results in the variation of leaf temperature. The objectives of this study were to detect the relation between leaf temperature variation and biomass accumulation to serve as an evidence for screening the germplasms tolerant to drought at maize seedling stage under moderate drought stress. 【Method】 Eighty- three elite maize inbred lines from China were used to identify the variation of seedling leaf temperature under moderate drought stress. An infrared thermography was employed to measure leaf temperature. Leaf stomatal conductance and transpiration rate were determined by porometer. Plant biomass was measured by electronic balance. 【Result】 Among the measured maize inbred lines at seedling stage under drought stress, relative biomass weight ranged from 0.271 to 0.997 (relative fresh weight), and from 0.338 to 0.969 (relative dry weight), leaf temperature difference varied between -0.1~+0.5 °C, which reached to significant levels. Under the drought condition, leaf temperature of drought tolerance lines rose significantly, while those of drought sensitive had not obvious variation. Leaf temperature difference between drought stress and well-watered conditions showed a significant positive correlation with relative fresh biomass (0.283*, 0.288**, n=83) and relative dry biomass (0.239*, 0.273**, n=83). Significant correlations of leaf temperature difference with stomatal conductance and transpiration rate were also detected. 【Conclusion】 Transpiration rate was one of the main causes affecting leaf temperature variation and stomatal behaviour served as an important regulation in leaf temperature response to water

收稿日期: 2008-08-29; 接受日期: 2008-11-28

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) 项目 (2003CB114301)

作者简介: 刘 亚 (1977-), 男, 湖北宜都人, 博士, 研究方向为玉米分子育种。E-mail: srlyyd@gmail.com。通信作者李建生 (1954-), 男, 湖北竹山人, 教授, 研究方向为玉米遗传育种。Tel: 010-62732422; E-mail: lijiansheng@cau.edu.cn

stress. Under drought stress, leaf temperature difference can reflect the capability of drought tolerance of maize significantly. It was feasible that infrared thermography could be adopted in screening drought-tolerance germplasm at maize seedling stage and accelerates the breeding effect for drought-tolerance as an assistant means.

Key words: maize; leaf temperature; drought; infrared thermography

0 引言

【研究意义】中国是一个严重缺水的国家, 北方缺水尤其严重, 而北方是中国玉米的主要种植区域。因此, 中国的玉米生产面临非常严峻的干旱问题, 遇到干旱严重的年份更是给中国的玉米产量带来巨大的损失^[1]。面对这一问题, 选育能够抵御干旱胁迫的耐旱玉米品种无疑是解决这一问题的有效途径之一, 而玉米耐旱性鉴定则是选育耐旱性品种的非常重要环节。植物气孔蒸腾是植物对水分吸收和运输的主要动力, 消耗的水分可占总水分消耗的 80%~90%以上, 因此减少气孔蒸腾是植物控制失水和耐旱的关键。这种生物节水^[2]的方式在实现作物耐旱的同时, 又节约了水资源, 从而达到了耐旱与节水的有效平衡, 使作物能更加有效的抵御干旱灾害。【前人研究进展】在正常情况下植物的叶片温度通过蒸腾失水来维持相对的稳定性, 一旦遇到外界胁迫如干旱的影响, 叶温的变化将被用来监测诊断植株的受胁迫情况^[3]。在缺水条件下, 一般气孔行为的改变会直接反映在一些生理指标如气孔导度、蒸腾强度等的改变上, 由于水分吸收跟不上水分的蒸腾, 因此气孔为了维持植物体内的水分平衡将会趋于关闭, 而蒸腾强度的改变通常决定叶片表面热量损失的程大小, 继而导致叶温的变化^[4]。植物叶温的研究已有不少报道。Blum 等^[5]研究发现在不同的小麦品种间叶温与叶片扩散阻力呈显著的正相关。水稻冠层温度与叶水势、结实率^[6]及生物量^[7]均呈极显著性负相关。Barbara 等^[8]研究发现, 干旱情况下甜菜叶温在基因型间差异表现不显著, 提出利用叶温差异即正常灌水对照与干旱胁迫条件下的叶温差异则可以较好的进行区分。冠层温度与空气温度的差值也被当作陆稻^[9]、小麦^[10-11]等品种田间抗旱的一个指标。王秀玲等对玉米不同基因型叶温差进行了剖析, 玉米杂交种的叶温差均表现出了正向超亲性^[12], 目前玉米不同品种间的叶温变化以及与抗旱性的关系研究的仍比较少。【本研究切入点】日益灵敏的远红外成像系统为广大科研人员研究叶片表面的气孔变化及其动态的高分辨率研究提供了可行性^[3,13], 热成像测量校正得到的气孔导度与用常规的气孔计得

到的气孔导度表现出了较好的相关性^[14]。最近, 远红外热成像已被认为是一种非接触、高通量的大规模筛选突变体植株的有利工具^[15-19]。【拟解决的关键问题】本研究以国内部分优良的玉米自交系为材料, 利用高分辨率的远红外热成像仪研究干旱胁迫条件下玉米自交系苗期叶温的变化趋势, 以及玉米叶温变化与植株生物量累积的关系, 以此作为选育玉米耐旱自交系的一个依据, 并探讨利用远红外热成像仪进行玉米耐旱育种的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用全国大面积应用的玉米杂交种亲本自交系 83 份 (表 1)。

1.2 材料种植与试验设计

精选玉米种子于培养箱内浸泡 10 h, 在 28℃ 条件下发芽, 36 h 后挑选发芽一致的种子种植于 23 cm×16 cm 规格的塑料钵内。每个塑料钵内填充 1.8 kg 大田壤土, 0.7 kg 蛭石 (1:1, v/v) 以及施用 3.0 g 的复合肥 (45%)。每钵播 12 粒, 出苗后挑选一致的植株每钵定苗至 4 株。所有材料种植于温室内, 试验分为 2 个水分处理, 正常灌水处理 (对照) 与水分胁迫处理。对照处理的土壤相对含水量保持在 80% 以上, 干旱处理则在种后 13 d (玉米植株 4~5 片叶) 停止浇水, 直至土壤含水量降至 50% (中度干旱胁迫)^[20], 然后采用土壤称重法维持土壤含水量。

试验采用裂区设计, 自交系作为主区, 水分处理作为副区, 每个重复的每个自交系干旱与对照处理紧邻排列。试验分 2 次分别于 2005 年 9 月 (试验 1) 和 2006 年 4 月 (试验 2) 进行。试验 1 设有 3 次重复, 每个自交系每个处理 1 钵。试验二设有 2 次重复, 每个自交系每个处理 2 钵。

1.3 远红外热成像图的获取

本试验采用高分辨率的 ThermoCAM SC 3000 热成像仪 (FLIR Systems, USA), 配备 320×240 PtSi 探测器, 能够探测短波红外线 (8~9 μm)。选用 20° 镜头, FOV 视场为 20°×15° (宽×高), 灵敏度为 0.03℃, 发射率设定为 0.95。在种后 20 d 后 (4~5 叶

表 1 干旱胁迫条件下不同玉米自交系苗期的生物量耐旱系数、叶温差及其变异系数

Table 1 Drought tolerant index of biomass, leaf temperature difference and their coefficient of variance of maize inbred lines in the experiments

自交系名称 Inbred line	试验 1 Experiment 1 (2005.9)			试验 2 Experiment 2 (2006.4)		
	SFW ^a	SDW ^b	LTD	SFW ^a	SDW ^b	LTD
Lx9801	0.855	0.969	0.20	0.997	0.959	0.27
文黄 31413 Wenhuang31413	0.993	0.998	0.16	0.839	0.904	0.17
H21	1.089	1.218	0.22	0.699	0.806	0.10
S22	0.766	0.881	0.22	0.980	1.195	0.17
5003	0.857	0.935	0.35	-	-	-
天四 Tiansi	0.962	1.051	0.22	0.691	0.796	0.35
黄 C Huang C	0.811	1.115	0.22	-	-	-
黄野四 Huangyesi	0.745	0.856	0.42	0.813	0.989	0.31
黄早四 Huangzaosi	0.911	0.990	0.17	0.623	0.668	0.32
郑 653 Zheng653	0.716	0.836	0.26	0.776	0.888	0.17
446	0.831	0.976	0.20	0.623	0.715	0.09
87-1	0.729	0.818	0.28	0.702	0.780	0.31
苏湾 1611 Suwan1611	0.828	0.843	0.19	0.595	0.725	0.08
综 31 Zong31	0.627	0.730	0.18	0.788	0.898	0.01
Mo17	0.848	0.840	0.30	0.562	0.822	0.25
沈 137 Sheng137	0.764	0.864	0.14	0.621	0.776	0.13
吉 63 Ji63	-	-	-	0.684	0.877	0.03
沿 414 Yan414	0.718	0.821	0.05	0.642	0.626	0.06
77	0.642	0.713	0.20	0.707	0.712	0.20
吉 853 J853	0.526	0.604	0.08	0.823	0.883	0.26
444	0.725	0.754	0.07	0.618	0.711	0.00
M0113	0.493	0.610	0.25	0.834	0.981	0.39
丹 9046 Dan9046	0.642	0.719	0.10	0.683	0.752	0.31
488	0.621	0.663	0.18	0.699	0.817	0.05
长 3 Chang3	-	-	-	0.656	0.751	-0.01
昌 7-2 Chang7-2	0.499	0.602	0.38	0.807	0.879	0.25
海 268 Hai268	0.459	0.539	-0.05	0.842	0.876	0.07
沿 812 Yan812	0.575	0.796	0.08	0.723	0.835	0.22
西 502 Xi502	0.507	0.591	0.12	0.758	0.885	0.23
4112	0.592	0.634	0.36	0.669	0.788	0.27
武 109 Wu109	0.626	0.627	0.10	0.621	0.700	0.16
交 51 Jiao51	0.692	0.804	0.03	0.541	0.724	0.12
P138	0.527	0.682	0.03	0.703	0.805	0.20
掖 107 Ye107	-	-	-	0.612	0.727	0.06
178	0.639	0.712	0.27	0.577	0.653	0.19
吉 846 Ji846	0.684	0.753	0.08	0.523	0.562	0.15
获唐黄 17 Huotanghuang17	0.520	0.628	-0.02	0.681	0.764	0.02
BT1	0.726	0.864	0.09	0.471	0.566	0.03
5311	0.436	0.574	0.03	0.756	0.914	0.05
81162	0.769	0.761	0.16	0.392	0.487	-0.07
郑 32 Zheng32	0.616	0.721	0.25	0.538	0.640	0.12
吉 53 Ji53	0.523	0.667	0.06	0.630	0.740	0.14

续表 1 Continued table 1

自交系名称 Inbred line	试验 1 Experiment 1 (2005.9)			试验 2 Experiment 2 (2006.4)		
	SFW ^a	SDW ^b	LTD	SFW ^a	SDW ^b	LTD
长 72 Chang72	0.474	0.581	0.13	0.671	0.753	0.13
K10	0.565	0.567	0.09	-	-	0.29
Q1261	0.486	0.568	0.20	0.642	0.680	0.28
综 3 Zong3	0.541	0.636	0.15	0.586	0.679	0.10
齐 319 Qi319	0.436	0.545	0.11	0.681	0.798	0.16
丹 599 Dan599	0.481	0.656	0.00	0.626	0.686	0.02
郑 22 Zheng22	0.469	0.594	0.07	0.630	0.785	0.05
4F1	0.567	0.620	0.19	0.519	0.568	0.04
齐 205 Qi205	0.414	0.505	0.15	0.671	0.750	0.05
自 330 Zi330	0.421	0.490	0.16	0.661	0.745	0.02
48-2	0.537	0.616	-0.05	0.540	0.612	-0.05
丹黄 02 Danhuang02	0.536	0.684	0.18	-	-	-
豫 374 Yu374	0.492	0.648	0.16	0.578	0.649	0.12
3H-2	0.561	0.658	0.12	0.497	0.618	0.01
K12	0.494	0.585	0.04	0.558	0.598	0.16
农抗 11 Nongkang11	0.484	0.593	-0.06	0.551	0.582	0.15
东 237 Dong237	0.544	0.616	0.38	0.490	0.570	0.23
B73	0.528	0.628	0.00	0.491	0.569	0.08
铁 7922 Tie7922	0.414	0.512	0.04	0.603	0.711	0.04
S37	0.522	0.689	0.31	0.492	0.644	0.22
K22	0.462	0.538	0.15	0.549	0.603	0.23
52106	0.504	0.665	-0.07	0.504	0.635	0.02
海 1134 Hai1134	-	-	-	0.487	0.526	0.02
478	0.519	0.485	0.09	0.429	0.540	0.01
掖 832 Ye832	0.615	0.640	0.14	0.325	0.394	-0.03
户 803 Hu803	0.444	0.545	0.15	0.483	0.554	0.01
7884	0.512	0.596	-0.02	0.414	0.522	0.01
海 014 Hai014	0.336	0.448	0.23	0.579	0.658	0.22
C8605-2	0.407	0.494	-0.03	0.503	0.546	0.01
434	-	-	0.21	0.455	0.512	0.11
东 46 Dong46	0.365	0.452	0.13	0.524	0.492	0.13
8902	0.455	0.563	0.00	0.419	0.501	0.30
8112	0.376	0.490	0.09	0.474	0.511	0.07
515	0.454	0.668	0.17	0.381	0.477	0.15
5237	0.411	0.487	0.07	0.422	0.486	0.25
698-3	0.403	0.545	0.19	0.390	0.453	0.16
南 21-3 Nan21-3	0.251	0.351	0.05	0.493	0.544	0.11
旅 28 Lv28	0.315	0.444	-0.04	0.420	0.503	-0.07
丹 598 Dan598	-	-	-	0.354	0.438	0.25
杂 C546 Za C546	0.396	0.542	0.30	0.309	0.431	0.05
丹 340 Dan340	0.358	0.458	0.05	0.271	0.338	0.03
平均值 Mean	0.581	0.676	0.137	0.597	0.685	0.129
变异系数 CV(%)	29.2	24.9	81.1	24.6	23.8	84.1

字母 a, b 分别表示生物鲜重与生物干重的干旱胁迫反应程度, 即干旱与正常情况下所测得数值的比值, SFW: 生物鲜重, SDW: 生物干重, LTD: 叶温差。缺失值主要由于苗未发芽或苗长势过于虚弱所致

The letter a and b represents the fresh biomass and dry biomass reaction to drought stress, the ratio of drought treatment to control condition. SFW: shoot fresh weight, SDW: shoot dry weight, LTD: leaf temperature difference. Missing values were mainly caused by no germination and weaker growing

期)的 9:00~11:30 采集远红外热图。为了避免阳光直接照射,在温室顶上应用了一副透光率为 80%的遮阳网,保证了光线的均一性。每个自交系的干旱及对照 2 个处理依次采集图像,每钵采集 4 次。将远红外镜头置于植株上方并能灵活转动,对最上部玉米展开叶(距成像仪 0.8 m 左右)进行测定,同时连接有监视器得到可视的热成像图。图象格式存为 14 位远红外数字图像(IR digital image, IMG),图像中每一个点均含有温度值信息。获取的远红外图像利用 ThermoCAM Researcher 2002 软件进行温度分析。通过选择适合的标尺与调色板,这些远红外图像能够变得更为清晰,利用软件自带的点、线以及面积的测量功能测定玉米整个叶片的温度。

1.4 生物重的测定

获取远红外热图之后,将地上茎部分剪断,迅速称得生物鲜重。然后置于 105℃烘箱中杀青 30 min,继续于 75℃烘箱中 48 h 后测定生物干重。

1.5 气孔导度(SC)及蒸腾强度(TR)的测定

获取远红外热图之后挑选一个天气晴朗的上午进行玉米叶片气孔导度的测定。选择玉米植株的最上部完全展开叶进行测定,3 次重复。所用仪器采用美国 LI-1600 型稳态气孔计测定蒸腾强度以及气孔导度。

1.6 数据分析

本研究采用干旱与对照(正常水分灌溉)间的叶片温度差异,而非叶片的绝对温度来进行分析。叶温差(leaf temperature difference, LTD)定义为玉米叶片在水分胁迫与正常水分浇灌条件下的差异。其它与耐旱有关的性状如生物鲜重(shoot fresh weight, SFW)以及生物干重(shoot dry weight, SDW)则采用耐旱系数(drought tolerance index, DTI),即干旱与正常灌水条件下的比值进行分析。使用 SAS PROC GLM 程序(SAS 8.2, SAS Institute, 1999—2001)对玉米自交系间各性状进行方差分析。重复间的各性状均值用于玉米自交系间的比较以及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同玉米自交系苗期遭受干旱胁迫条件下植株生物量的表现分析

玉米自交系苗期生物量(生物鲜重、生物干重)的耐旱系数结果列于表 1 中。将每个自交系的生物鲜重、生物干重耐旱系数作为一个遗传因素,进行 2 年试验方差分析。结果表明水分胁迫处理能够显著地影响玉米自交系的长势,各自交系间幼苗生物量的耐旱

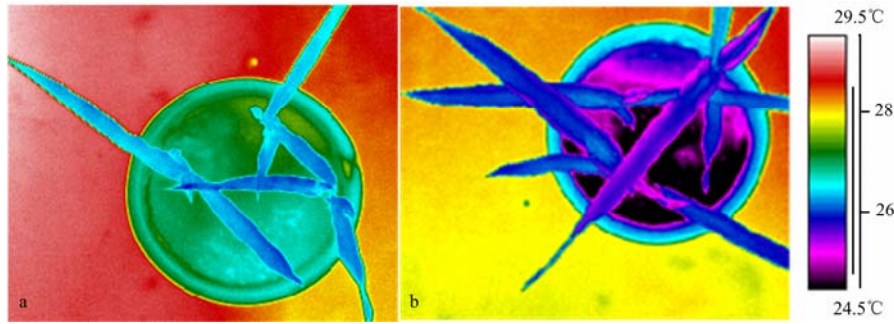
系数均表现出了显著差异性($P<0.01$)。从变异系数来看,干旱处理的自交系间的变异程度明显较对照(正常灌水)处理要广泛的多(数据未列出)。其中自交系 Lx9801、文黄 31413、H21、S22、5003、天四、黄 C、黄野四、黄早四、郑 653 等表现出了更高的相对生物量,生物鲜重及干重变异范围分别为 0.716~0.997 和 0.836~0.969;而自交系 8902、8112、515、5237、698-3、南 21-3、旅 28、丹 598、杂 C546、丹 340 等则表现出了相对较低的生物量,生物鲜重及干重变异范围分别为 0.271~0.455 和 0.338~0.563。上述结果表明在所选择的这些玉米自交系中存在着广泛的苗期耐旱性差异,耐旱性强的玉米自交系较耐旱性弱的自交系在水分胁迫条件下能够保持更高的生物量,更好的维持自身的生长发育。

2.2 基于远红外热成像图的叶温差与苗期生物量的关系

试验 1 利用远红外热成像仪测定叶温的时间为 2005 年 9 月,测定期间温室温度为 21~26℃。试验 2 测定时间为 2006 年 4 月,测定期间温室温度 24~30℃。2 次试验均从 9:00~11:30 进行远红外热成像图采集,期间环境温度逐渐升高,叶片温度也呈逐渐升高之势。本试验将每个重复的不同处理相邻放置,且采用干旱处理与正常灌水处理的叶温差值进行分析,减小了由于长时间测定而受到的环境温度升高的影响。而且 21~30℃的温度范围比较适合玉米的生长,玉米气孔可以充分开放,使得干旱胁迫所致的气孔变化继而引起的叶温变化成为主要的遗传差异,从而保证了各个基因型的有效筛选和鉴定。

根据远红外热成像仪拍摄热图(图)的分析,叶温差在自交系间表现出了显著的变异,变异系数分别为 81.1%和 84.1%。方差分析表明自交系间与年份间均达到了显著水平,说明年份对叶温差有一定的影响。2 次试验发现,相对生物量表现较好的自交系叶温差具有相对较高的趋势,相对耐旱性较弱的材料,这种差异平均在 0.15℃以上,且在两年的试验中均达到了极显著水平(数据未给出),表明耐旱性好的自交系有着更强的叶温响应程度。

利用 SAS 相关性分析得到了干旱与正常灌水条件下叶温差及相对生物量、相对气孔导度、相对蒸腾强度的相关系数。两年试验生物鲜重与生物干重间表现出了极显著的正相关性(0.91**, 0.95**, $n=83$)。叶温差值与相对生物鲜重(0.283*, 0.288**, $n=83$)及相对生物干重(0.239*, 0.273**, $n=83$)间也表现



拍摄的玉米自交系 87-1 的远红外热图，色板中不同的颜色点分别代表不同的温度值。a 和 b 分别表示水分胁迫条件下和正常灌水条件下 87-1 的远红外热图，叶温在两个不同的处理间有着明显的变化

The different color point in the palette represents different temperature value. The figure a and b represent the thermal figure of 87-1 under water-stress condition and well-watered condition, respectively. Leaf temperature varied obviously under water-stress (a) and well-watered (b) conditions

图 远红外热成像仪 thermaCAM SC3000 拍摄的热成像图

Fig. Thermal images taken by thermaCAM SC3000.

出了显著的相关性。玉米自交系叶温差越大，则相对生物重越高，在遭受水分胁迫时叶温变化较大的玉米品种生物量积累能力更强。表明在广泛的玉米种质范围内，玉米苗期叶片温度对干旱的响应与生物量存在一定的关系，遭受干旱胁迫时，叶片对温度的响应一定程度上影响着植株生物量的大小。

2.3 叶片气孔导度及蒸腾强度与叶温差、生物量的关系

根据苗期正常灌水及干旱条件下植株的长势情况，进一步选定耐旱性相对较强的 5 个自交系黄野四、

446、沿 414、黄早四、文黄 31413 以及耐旱性相对较弱的 5 个自交系东 46、C8605-2、旅 28、南 21-3、丹 340 共计 10 个玉米自交系进行了气孔导度及蒸腾强度的测定。气孔导度以及蒸腾强度的 2 次试验分析结果见表 2。方差分析表明气孔导度以及蒸腾强度受水分胁迫的影响均达到了显著性水平。相对生物量表现较好的自交系与相对生物量表现较差的自交系间的气孔导度以及蒸腾强度在 2 次试验中均存在着显著或极显著的差异（表 3）。

表 2 不同自交系与耐旱有关的生理指标的耐旱系数及其变异系数

Table 2 Drought tolerant index and coefficient of variance of physiological traits of maize inbred lines in two experiments

自交系名称 Inbred line	试验 1 Experiment 1		试验 2 Experiment 2	
	气孔导度 SC ^a	蒸腾强度 TR ^b	气孔导度 SC ^a	蒸腾强度 TR ^b
黄野四 Huangyesi	0.507	0.545	0.746	0.768
446	0.554	0.589	0.686	0.694
沿 414 Yan414	0.565	0.598	0.656	0.660
黄早四 Huangzaosi	0.609	0.630	0.560	0.593
文黄 31413 Wenhuang31413	0.402	0.434	0.525	0.581
东 46 Dong46	0.616	0.671	0.839	0.816
C8605-2	0.639	0.697	0.972	0.993
旅 28 Lv28	0.741	0.769	0.679	0.703
南 21-3 Nan21-3	0.529	0.562	0.722	0.602
丹 340 Dan340	0.624	0.652	0.703	0.705
均值 Mean	0.579	0.615	0.709	0.712
变异系数 CV(%)	15.7	15.0	18.1	17.5

字母 a, b 分别表示气孔导度与蒸腾强度的干旱胁迫反应程度，即干旱与正常情况下所测得数值的比值

The letter a and b represents the stomatal conductance and transpiration rate reaction to water stress, the ratio of drought treatment to control condition. SC: stomatal conductance, TR: transpiration rate

相关性分析(表 4)表明,相对气孔导度与蒸腾强度均表现出了较高的正相关系数($P < 0.01$),这与它们之间非常紧密的生理关系表现一致。在 2 次试验中,试验 1 生物量、叶温差与气孔导度、蒸腾强度的相关性均达到了 0.05 的显著负相关水平,而在试验 2 中,生物量、叶温差与气孔导度、蒸腾强度的相关性未达到显著水平。上述结果表明叶温差与气孔导度、特别是蒸腾强度存在着紧密的联系,叶温差与气孔行

为的表现关系密切,但同时又易受到外界环境因素的干扰。

相对较低的气孔导度系数以及蒸腾强度系数的自交系表现出更高的相对生物量,耐旱性强的自交系通过更大程度的关闭气孔来达到降低蒸腾作用,从而减少植株的水分消耗,保证其自身抵御干旱生长发育所必需的水分。

本试验中叶温变化幅度大小与气孔导度以及蒸腾

表 3 2 次试验各性状联合方差分析 F 值结果

Table 3 F value in joint ANOVA of various traits in two experiments

变异来源	自由度	生物鲜重	生物干重	叶温差	自由度	气孔导度	蒸腾强度
Source	DF	SFW	SDW	LTD	DF	SC	TR
区组(年份)间 Block (year)	2	0.52	0.81	2.52	2	4.06*	4.69*
自交系间 Inbred lines	82	1.48**	1.50**	2.19**	9	3.48*	4.21*
年份间 Year	1	0.22	0.38	3.93*	1	9.16**	10.29**
自交系×年份 Inbred*year	77	0.75	0.69	1.56*	9	0.98	0.95
误差 Error	215				25		
总变异 Total	377				46		

*,** 分别代表 0.05 及 0.01 水平上显著。下同

*,** represents significant at 0.05 and 0.01 level, respectively; DF: degree of freedom

表 4 玉米自交系 2 次试验间与耐旱相关性状的相关性分析

Table 4 Correlation among traits related to drought tolerance in maize inbred lines

试验 2 Experiment 2	试验 1 Experiment 1				
	生物鲜重 SFW	生物干重 SDW	气孔导度 SC	蒸腾强度 TR	叶温差 LTD
生物鲜重 SFW	-	0.991**	-0.610*	-0.643*	0.602*
生物干重 SDW	0.969**	-	-0.555	-0.591*	0.624*
气孔导度 SC	-0.361	-0.321	-	0.992*	-0.576*
蒸腾强度 TR	-0.230	-0.192	0.929	-	-0.578*
叶温差 LTD	0.646*	0.615*	-0.375	-0.338	-

强度变化幅度大小表现出了显著的协同性,说明蒸腾是引起叶温变化的主要原因之一,气孔行为在叶温变化方面起着重要的调节作用。以上分析表明,耐旱性强的自交系有着更强烈的气孔响应来适应干旱带来的胁迫,这主要表现在气孔导度以及蒸腾强度的降低以及叶温的升高上。

3 讨论

3.1 玉米自交系苗期的耐旱性

玉米不同生育时期往往表现出不同的抗旱性,干旱对玉米生长发育影响较大的时期主要有苗期、抽雄吐丝期、灌浆高峰期等。本试验主要从生物量对干旱

的敏感程度来鉴定苗期玉米自交系苗期的耐旱性。斐英杰等^[21]指出用幼苗耐旱性鉴定结果可以较好地评价玉米品种的抗旱性。植物的生物量及产量通常被作为判别植物是否抗旱的综合性指标。由本试验的研究结果可以看出,连续几天停止浇水加强了中度水分胁迫,导致了玉米自交系苗期生物量的减少,自交系间的生物量的耐旱系数表现出了较大的差异。周树峰等^[22]利用 57 个玉米自交系采用成熟期籽粒产量耐旱系数为指标进行了耐旱性的划分。在与本研究共有的 13 个自交系中,87-1、5003、黄 C、沈 137 均表现出了较为一致的强耐旱性,丹 340、S37、7922、C8605-2、自 330 则表现出了相对较弱的耐旱性。而南 21-3 则有

较大的不同, 这可能与部分品种苗期与成熟期在耐旱性差异上存在较大, 导致如开花吐丝期遇到干旱导致雌雄不协调时常会造成较大的减产有关。总体来看, 苗期生物量与成熟期籽粒产量的耐旱系数总体趋势一致, 只有极少部分差异较大, 苗期的耐旱性可以较好的反映自交系的耐旱性。

在本试验研究的玉米自交系当中, 有 12 个自交系来源于地方品种黄早四, 包括 S22、444、黄野四、黄早四、西 502、5237、文黄 413、H21、昌 7-2、吉 853、K12、Q1261 等, 在中国玉米杂种优势主体模式中占有主导地位^[23]。根据本试验苗期鉴定的结果, 黄早四种质系统具有优异的抗旱性。李哲等^[24]研究表明具有黄早四血缘的齐 310 及组配的杂交组合抗旱性明显强于旅大红骨系统的丹 340 及组配的杂交组合。武斌等^[25]对 53 份玉米自交系的苗期耐旱性分析发现四平头亚群为重要的耐旱种质类群, 这与本研究结果一致。因此, 在今后的抗旱育种过程中, 可针对性的加强黄早四血缘种质的渗入, 以提高玉米种质的抗旱性。

3.2 叶温差与玉米苗期耐旱性的关系

气孔导度与蒸腾强度是反应植物叶片气流与水分进出的一个量化指标, 在植株面临水分胁迫的时候, 植株会发生相应的自身调节来缓解胁迫带来的压力, 从而度过危机继续维持自身的生长发育^[26]。在本试验中, 玉米自交系的气孔导度与蒸腾强度在干旱胁迫情况下均较正常灌水情况下要低, 说明它们在遭受水分胁迫时均减小了气流或水分进出植株叶片的程度。相对气孔导度、相对蒸腾强度与叶温差呈显著负相关, 表明受到干旱胁迫时叶温的变化很大程度上与植物叶片的气孔运动变化有关^[27]。玉米植株在遭受干旱胁迫时蒸腾强度的降低与叶温升高呈协同性变化, 蒸腾强度的降低引起了叶温的升高。由此可以看出, 当受到水分胁迫时, 玉米植株叶片的气孔行为发生了变化, 继而引起玉米植株叶片的气孔导度和蒸腾强度的变化, 最后导致玉米叶片温度的升高^[4]。由气孔关闭导致的叶温升高仅仅是一个表象, 实际上水分胁迫导致的气孔关闭减少了水分的散失, 继而使得植物的生物量积累相对更高一些。这一现象也是植株自身为了适应干旱的结果, 从而有利于植株维持正常的生理代谢, 对于植物响应水分胁迫的生物量积累上, 叶温差可能提前反应了生物量的表现能力。

多项研究表明, 植株冠层温度、冠气温差等指标与植物的生物量^[7]、产量^[7,10-11]及其抗旱相关性状结实率^[6]、卷叶度^[7]、叶水势^[6-7,9]、叶片扩散阻力^[5]、气孔

导度^[9-10]等均有着密切的关系, 可以作为耐旱性鉴定潜力的间接选择指标。从本试验玉米自交系幼苗叶温差与相对生物量的相关性分析来看, 基于远红外热成像的叶温差与相对生物量呈显著性正相关。本研究所实验室利用远红外热成像仪对 187 个玉米重组自交系也进行了叶温差的相关性研究, 发现重组自交系的叶温差与相对生物量也存在显著的正相关性, 与本试验研究结果一致(未发表数据)。表明在响应干旱胁迫方面, 玉米苗期生物量积累能力与叶温变化存在着紧密的联系, 叶温差较高的基因型在遭受到水分胁迫时生物量会表现的更强一些。

由于植物的光合作用和蒸腾作用速率大小主要取决于植株的气孔开度和叶面积, 因此植株的生物量大小与其蒸腾作用之间也必然存在内在的紧密相关性^[28]。本研究相对气孔导度、相对蒸腾强度与相对生物量均呈显著性相关, 说明干旱胁迫时玉米叶片蒸腾强度的变化以及协同变化的叶温均与相对生物量存在紧密的关系, 玉米苗期叶片温度变化可以显著的反映玉米苗期的抗旱性, 叶温差可以作为玉米苗期耐旱性初步筛选的一个指标。

3.3 远红外成像技术在玉米耐旱性鉴定中的原因

植物叶子表面的温度取决于环境因素和蒸腾带来的冷却作用(向外的潜在热流)的影响^[29]。因此, 在当外界因素保持相对稳定的时候, 叶温的变化便会主要由某个因素如蒸腾冷却所决定。在本试验中, 采取将水分胁迫处理与正常灌水处理成组配对的裂区设计, 使得每个玉米自交系两个处理的叶温几乎被同时测定, 排除了由于长时间测定带来的外界环境因素变化带来的干扰, 使得遗传因素成为每个玉米自交系之间的主要差异, 有效的保证了试验结果的可靠性。参考 Ray 等^[20]的研究, 本试验采用 50% 的土壤含水量(中度水分胁迫)能够较好的区分玉米自交系的每个基因型的气孔表现, 是试验中研究气孔表现与叶温对水分胁迫响应(叶温差)之间关系的较好量度。除此以外, 本试验选择在温室避免了空气对流而造成环境因素过大干扰的问题, 能够保持气流、空气湿度等环境因素的相对稳定性, 试验期间 21~30℃ 的温室环境温度也能够促使玉米的气孔开度达到最大化, 从而促进整个植株的生长发育。另外, 测定时遮阳网的应用对于避免强光直接照射保证采光的均一性也是一个有利的措施。而且, 本试验采用的 FLIR ThermoCAM SC 3000 远红外热成像仪灵敏度达到 0.03℃, 具有极高的分辨率和热灵敏度, 相对于通常的红外温度计, 远红外热

成像仪能够输出高分辨率的热图,能够较好地反应每个基因型叶片温度对干旱胁迫反应的细小差异,是一个非常有用的研究叶温响应水分胁迫的工具。因此,利用远红外热成像仪来测定正常与干旱胁迫条件下的不同玉米叶片的温度差值,将会非常有效的比较每个玉米自交系对干旱的叶温响应程度。

4 结 论

遭受干旱胁迫时,玉米苗期叶片温度变化可以显著地反映玉米苗期的抗旱性,叶温差可以作为玉米苗期耐旱性初步筛选的一个指标,将远红外热成像技术运用于玉米耐旱育种存在着可行性。考虑到耐旱的复杂性,提出将远红外热成像技术作为玉米耐旱育种的一种辅助手段,其育种过程将会更加快速高效。

致谢: 河南大学宋纯鹏教授为本试验提供了远红外热成像仪并给予了诸多的宝贵建议,在此表示感谢。

References

- [1] 黎 裕, 王天宇, 石云素, 宋艳春. 玉米抗旱性的 QTL 分析研究进展和发展趋势. 干旱地区农业研究, 2004, 22(1): 32-39.
Li Y, Wang T Y, Shi Y S, Song Y C. Advances and prospects on QTL analysis of drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2004, 22(1): 32-39. (in Chinese)
- [2] 张正斌. 作物抗旱节水的生理遗传育种基础. 北京: 科学出版社, 2003: 83-133.
Zhang Z B. *Fundamentals of Physiology and Genetics and Breeding in Crop Drought Resistance and Water Saving*. Beijing: Science Press, 2003: 83-133. (in Chinese)
- [3] Laury C, Dominique V D S. Imaging techniques in early detection of plant stress. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(11): 495-501.
- [4] Lourtie E, Bonnet M, Bosschaert L. New glyphosate screening technique by infrared thermometry // *Fourth International Symposium on Adjuvants for Agrochemicals*, Australia, 1995: 297-302.
- [5] Blum A, Mayer J, Gozlan G. Infrared thermal sensing of plant canopies as a screening technique for dehydration avoidance in wheat. *Field Crops Research*, 1982, 5: 137-146.
- [6] Liu H Y, Zou G H, Liu G L, Hu S P, Li M S, Yu X Q, Mei H W, Luo L J. Correlation analysis and QTL identification for canopy temperature, leaf water potential and spikelet fertility in rice under contrasting moisture regimes. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(4): 317-326.
- [7] Babu R C, Nguyen B D, Chamarerk V, Shanmugasundaram P, Chezian P, Jeyaprakash P, Ganesh S K, Palchamy A, Sadasivam S, Sarkarung S, Wade L J, Nguyen H T. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: association between secondary traits and field performance. *Crop Science*, 2003, 43: 1457-1469.
- [8] Shaw B, Thomas T H, Cooke D T. Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation*, 2002, 37: 77-83.
- [9] Fukuoka M, Iwama K, Jitsuyama Y. Difference between canopy temperature and air temperature as a criterion for drought avoidance in upland rice varieties under field conditions in Japan. *Japanese Journal of Crop Science*, 2006, 75(1): 57-67.
- [10] Amani I, Fischer R A, Reynolds M P. Canopy temperature depression association with yield of irrigated wheat cultivars in a hot climate. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1996, 176: 119-129.
- [11] Fan T L, Balta M, Rudd J, Payne W A. Canopy temperature depression as a potential selection criterion for drought resistance in wheat. *Agricultural Sciences in China*, 2005, 4(10): 793-800.
- [12] 王秀玲, 赵 明, 王启现, 李连禄, 王美云. 玉米不同基因型气孔特征和叶温差的研究. 华北农学报, 2004, 19(1): 74-77.
Wang X L, Zhao M, Wang Q X, Li L L, Wang M Y. Studies on stomatal characters and leaf temperature gap of different maize genotypes. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2004, 19(1): 74-77. (in Chinese)
- [13] Leinonen I, Jones H G. Combining thermal and visible imagery for estimating canopy temperature and identifying plant stress. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(401): 1423-1431.
- [14] Jones H G. The use of thermography for quantitative studies of spatial and temporal variation of stomatal conductance over leaf surfaces. *Plant Cell Environment*, 1999, 22: 1043-1055.
- [15] Merlot S, Mustilli A C, Genty B, North H, Lefebvre V, Sotta B, Vavasseur A, Giraudat J. Use of infrared thermography to isolate *Arabidopsis* mutants defective in stomatal regulation. *The Plant Journal*, 2002, 30(4): 601-609.
- [16] Jones H G, Stoll M, Santos T, de Claudia C, Chaves M M, Grant O M. Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field: application to grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(378): 2249-2260.
- [17] Wang Y B, Holroyd G, Hetherington A M, Ng C K. Seeing 'cool' and 'hot' - infrared thermography as a tool for non-invasive, high-throughput screening of *Arabidopsis* guard cell signalling mutants. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(400): 1187-1193.
- [18] Song Y W, Kang Y L, Liu H, Zhao X L, Wang P T, An G Y, Zhou Y, Miao C, Song C P. Identification and primary genetic analysis of

- Arabidopsis* stomatal mutants in response to multiple stresses. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(21): 2586-2594.
- [19] Verslues P E, Agarwal M, Surekha K A, Zhu J H, Zhu J K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 2006, 45: 523-539.
- [20] Ray J D, Sinclair T R. Stomatal closure of maize hybrids in response to drying soil. *Crop Science*, 1997, 37: 803-807.
- [21] 斐英杰, 郑家玲, 庾 红, 王金胜, 丁起胜, 郭栋生, 郭春绒. 用于玉米品种抗旱性鉴定的生理生化指标. *华北农学报*, 1992, 7(1): 31-35.
- Fei Y J, Zheng J L, Yu H, Wang J S, Ding Q S, Guo D S, Guo C R. The index of physiology and biochemistry used for appraisal and level determination of drought resistance in maize. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1992, 7(1): 31-35. (in Chinese)
- [22] 周树峰, 李晚忱, 付凤玲, 荣廷昭. 57 个常用玉米自交系的耐旱性鉴定. *干旱地区农业研究*, 2002, 20(2): 127-130.
- Zhou S F, Li W C, Fu F L, Rong T Z. Drought tolerance identification of 57 popularized maize inbred lines. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2002, 20(2): 127-130. (in Chinese)
- [23] 曾三省, 任 蕤, 刘新芝. 黄早四在我国玉米育种和生产中的重要地位. *玉米科学*, 1996, 4(1): 1-6.
- Zeng S X, Ren R, Liu X Z. The important position of Huangzaosi in maize breeding and production in China. *Maize Sciences*, 1996, 4(1): 1-6. (in Chinese)
- [24] 李 哲, 石清琢, 王延波, 白 萍. 玉米不同种质间耐旱性差异分析. *杂粮作物*, 2002, 22 (6): 336-338.
- Li Z, Shi Q Z, Wang Y B, Bai P. Difference analysis on drought resistance between different maize germplasms. *Rain Fed Crops*, 2002, 22(6): 336-338. (in Chinese)
- [25] 武 斌, 李新海, 肖木辑, 谢传晓, 郝转芳, 李明顺, 张世煌. 53 份玉米自交系的苗期耐旱性分析. *中国农业科学*, 2007, 40(4): 665-676.
- Wu B, Li X H, Xiao M J, Xie C X, Hao Z F, Li M S, Zhang S H. Genetic variation in fifty-three maize inbred lines in relation to drought tolerance at seedling stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(4): 665-676. (in Chinese)
- [26] Zelitch I. Stomatal control. *Annual Review of Plant Physiology*, 1969, 20: 329-350.
- [27] Hsiao T C. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 1973, 24: 519-570.
- [28] Nicholas C C, Francois T, Roberto T. Quantitative trait loci and crop performance under Abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiology*, 2008, 147: 469-486.
- [29] Nobel P S. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. New York: Academic Press, 1991.

(责任编辑 郭银巧)